

# Development of Therapeutic Single Chain Antibody Sensing System for Bioprocess Monitoring

M23海自36

派遣先 33rd Anniversary World Congress on Biosensors (釜山)

期 間 2023年6月5日～2023年6月9日 (5日間)

申請者 東京農工大学 工学府 生命工学専攻

博士前期課2年 濱 崎 真 衣

## 海外における研究活動状況

### 研究目的

IgGの抗原結合部位であるFvをペプチドリンカーでつないだ一本鎖抗体(scFv)は、微生物を用いた安価な生産が可能であり遺伝子工学的な改変が容易であることから、センシング素子としてだけでなく医薬品としての開発も進んでいる。そこで高い熱安定性と可塑性を持ち、また全合成も容易なDNAアプタマーに着目し、scFv特異的に結合するDNAアプタマーを獲得した。それを用いたscFv医薬品の組換え生産のバイオプロセスモニタリングを志向した電気化学アプタマーセンサーの構築を目的とした。

### 海外における研究活動報告

今回参加した33rd Anniversary World Congress on Biosensorsは2年に1度開催されるバイオセンシング分野で世界最大規模の国際学会であり、6月5日から6月8日まで韓国・釜山にて開催された。新型コロナウイルスの影響から、2020年度は中止、2021年度はWeb開催だったため、今回5年ぶりの対面開催であった。本学会は酵素・抗体・核酸等の分子認識素子ごとや、埋め込み型・スマートフォン型等のセ

ンサーの形状ごとにセッションが細かく分類されていたため、専門的で活発な議論が行われていた。

私はこれまで、汎用的な低分子抗体である一本鎖抗体scFvに特異的に結合するDNAアプタマーの取得に取り組んできた。現在は取得に成功したDNAアプタマーを利用して、scFvのバイオプロセスモニタリングを可能とする電気化学センサーの構築を行っている。scFvは、その分子量の小ささから大腸菌を用いた安価な調製が可能であり、遺伝子工学的な改変が容易である。そのためscFvは医薬品としての応用が進んでおり、scFvおよびscFvを構成単位とする医薬品は既に認可に至っている。しかし、現在scFvの検出手法としてはヒスチジンタグに代表される融合タグの利用が一般的であり、医薬品としては抗原性が懸念される。このため、scFvそのものを特異的に検出できるツールの開発が望まれている。そこで私は所属研究室の強みであるDNAアプタマーを活用することでscFvのバイオプロセスモニタリングを可能にするセンサーを開発することとした。DNAアプタマーとは、立体構造を形成し標的分子に特異的に結合するDNAのことで、化学合成や化学修飾が容易であり、熱安定性が高く可塑性を持つ。この特徴を活かし、電気化学アプタマー

センサーの構築を目指した。具体的には、抗 scFv アプタマーの獲得を目指して Systematic evolution of ligand by exponential enrichment (SELEX) 法によりアプタマー候補配列をスクリーニングした。獲得配列の scFv に対する結合能を評価した結果、scFv に対する特異的かつ汎用的な結合が確認された2つの配列を抗 scFv アプタマー P2-63, P1-12 として決定した。チオール基修飾したアプタマー P2-63, P1-12 を金とチオール基間の結合を介して金電極上に固定化させ、アプタマー固定化電極を作製した。scFv を含む反応溶液中でフェリシアン化カリウムを酸化還元プローブとして用いる矩形波ボルタメトリー (Square wave voltammetry: SWV) 測定を行い、酸化還元プローブのフラックスの変化を観測することで scFv の電気化学測定を行った。測定の結果、アプタマーを固定化した両電極において、フェリシアン化カリウム由来のピーク電流値が scFv 濃度の増加とともに減少したため、アプタマーへの scFv の結合に伴いフェリシアン化カリウムのフラックスが変化していることが示唆された。また、10 nM-1  $\mu$ M の範囲でピーク電流値変化に高い直線性が得られた。一般的に組換え生産における培地中の scFv 濃度は  $\mu$ M オーダーであることから、抗 scFv アプタマー固定化電極を用いた scFv の電気化学検出により、培地中 scFv の組換え生産

プロセスモニタリングが将来的に可能であると結論づけられた。

本学会では上記内容を6月8日に「Development of therapeutic single chain antibody sensing system for bioprocess monitoring」の題目で15分間の口頭発表を行った。私はこれまでに国外の国際会議で口頭発表した経験があるが、そこでは質疑応答の際に質問の意図を完璧に汲み取ることができず、また慣れない英語発表をこなすのに精一杯であった。しかし今回は客観的に自身の研究の潜在的な課題を意識したうえで発表に臨んだことで、質疑応答で実のある議論を行うことができた。また、これまでよりスムーズにプレゼンを行うことができ、自らの研究を学会でアピールするという観点から十分な結果を得ることができたと考えている。

最後に、本会議への参加にあたり、貴財団から多大なご支援をいただきましたこと、心より感謝申し上げます。

**この派遣の研究成果等を発表した  
著書、論文、報告書の書名・講演題目**

Mai Hamasaki, Ryutaro Asano, Kazunori Ikebukuro, Koji Sode: "Development of therapeutic single chain antibody sensing system for bioprocess monitoring" Biosensors 2023, June 5, 2023, Busan, Korea